



Área: Engenharia de Alimentos

SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO 3-INDOLACÉTICO COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DA PRODUTIVIDADE E REDUÇÃO DE CUSTOS DE PRODUÇÃO DE *Spirulina* sp. LEB 18

PACKOWSKI, Bruna Abel*; **SILVEIRA, Jéssica Teixeira da;** **ROSA, Ana Priscila Centeno da;** **COSTA, Jorge Alberto Vieira;**

*Laboratório de Engenharia Bioquímica, Curso de Engenharia Bioquímica, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.
E-mail: brunablpk@gmail.com*

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar o aumento da produtividade e a redução de custos da produção de biomassa e biomoléculas no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 suplementado com o fitohormônio ácido 3-indolacético (AIA). Os experimentos com a microalga foram conduzidos em duplicatas no período de 30 d, sendo estabelecida uma condição sem suplementação e os demais ensaios com adição de AIA nas concentrações de 0,01; 0,1; 1 e 10 mg L⁻¹. Observou-se que o valor máximo da produtividade de biomassa está presente nos ensaios com concentração de 0,1 e 1 mg L⁻¹ de AIA com acréscimo de 15% da produção relacionado ao cultivo sem adição do fitohormônio. Quando comparados os resultados referentes à produtividade das biomoléculas, os ensaios sem e com suplementação apresentaram respostas semelhantes. Ao analisar os custos gerados na produção de biomassa percebe-se redução (13%) a partir da ação do fitohormônio. Dessa forma, foi possível verificar que a ação de AIA no cultivo microalgal é eficaz para aumentar a produtividade de biomassa, mantendo a mesma produtividade de biomoléculas, além de reduzir custos de produção. Esse resultado permite maiores usos de biomassa microalgal na indústria alimentícia, uma vez que a torna uma matéria-prima mais acessível economicamente.

Palavras-chave: Auxina, biomassa microalgal, cultivo microalgal, fitohormônio.

1 INTRODUÇÃO

O embate atual sobre alimentação saudável e rica em nutrientes (OLIVEIRA et al., 2020) junto ao persistente impacto das implicações ambientais e sanitárias da agricultura convencional (STOTZ, 2012), estimulam pesquisas de novas tecnologias inteligentes e sustentáveis. Frente a isso, bioprodutos de origem microalgal e extratos de biomassa têm sido amplamente estudados como alternativa para substituição de produtos vegetais (MACHADO et al., 2017). Os biocompostos presentes na biomassa microalgal podem ser empregados em diversos nichos de mercado, como na produção de alimentos (LUCAS et al., 2018), ração animal (GRASSI et al., 2020), biocombustíveis (RAJAK et al., 2018), fármacos e nutracêuticos (HERNÁNDEZ-LEPE et al., 2015).

A microalga *Spirulina*, também classificada como cianobactéria, é uma excelente fonte de substâncias bioativas. Esse micro-organismo possui diversidade proteica contendo todos os aminoácidos essenciais. Além disso, essa microalga possui composição nutricional completa em vitaminas, carotenoides, ácidos graxos e minerais (BELAY, 2002). Esse gênero microalgal dispõe de certificado GRAS (*Generally Recognized as safe*) emitido pelo FDA (*Food and Drug Administration*), podendo sua biomassa ser incorporada a produtos para consumo humano (LOURENÇO, 2006). No entanto, ainda é necessário investir no desenvolvimento e aperfeiçoamento dos sistemas de cultivo para melhor viabilização econômica e produção em grande escala dessa matéria-prima.

A modificação dos fatores bioquímicos a partir da adição de fitohormônios aos cultivos microalgais tem se mostrado uma estratégia promissora para esse segmento. O estudo de Silveira (2019), com o uso de ácido 3-indolacético (AIA) em baixas concentrações, demonstrou aumento significativo na concentração de biomassa e na produção de biocompostos de interesse (lipídios, proteínas e carboidratos), quando adicionados ao cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18.

Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o aumento da produtividade e a redução de custos da produção de biomassa e biomoléculas no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 suplementado com AIA.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios com a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 (MORAIS et al., 2008) foram conduzidos em meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), em duplicatas, durante 30 d. Além da condição controle (C), foram estabelecidos ensaios com a suplementação do fitohormônio AIA (98%, Sigma-Aldrich, Brasil) em diferentes concentrações, sendo estas de 0,01; 0,1; 1 e 10 mg L⁻¹. Para realização dos experimentos, os reatores utilizados foram do tipo *Erlenmeyer* (volume útil 0,4 L) com concentração de biomassa inicial de 0,2 mg L⁻¹. Todos os ensaios foram realizados em câmara termostaticada mantida à 30 °C com fotoperíodo de 12:12 h (claro:escuro) (REICHERT et al., 2006), intensidade luminosa de aproximadamente 70 μmol fótons m⁻² s⁻¹ fornecidos por lâmpadas fluorescentes e agitação por meio de injeção de ar. O monitoramento amostral dos experimentos foi realizado diariamente e avaliados quanto à concentração de biomassa. Essa quantificação



foi determinada espectrofotometricamente, com uso de curva padrão que relaciona peso seco com densidade óptica (670 nm).

Ao final dos experimentos, a biomassa foi recuperada por centrifugação e liofilizada para quantificação das biomoléculas. Para este fim, utilizou-se o método descrito por Lowry et al. (1951) com curva padrão de albumina de soro bovino e etapa prévia de solubilização de proteínas com hidróxido de sódio. A quantificação de carboidratos totais foi realizada por meio do método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) com curva padrão de glicose. A análise de lipídios na biomassa foi definida pelo método proposto por Marsh e Weinstein (1966) em que os lipídios foram extraídos por solventes orgânicos clorofórmio:metanol (1:2) e quantificados colorimetricamente comparando com curva padrão de tripalmitina. A produtividade da biomassa no final dos ensaios foi determinada utilizando as concentrações de biomassa e tempos iniciais e finais do cultivo. O mesmo parâmetro foi calculado para as biomoléculas, multiplicando os resultados da produtividade de biomassa e a fração de proteínas, carboidratos ou lipídios da biomassa no experimento.

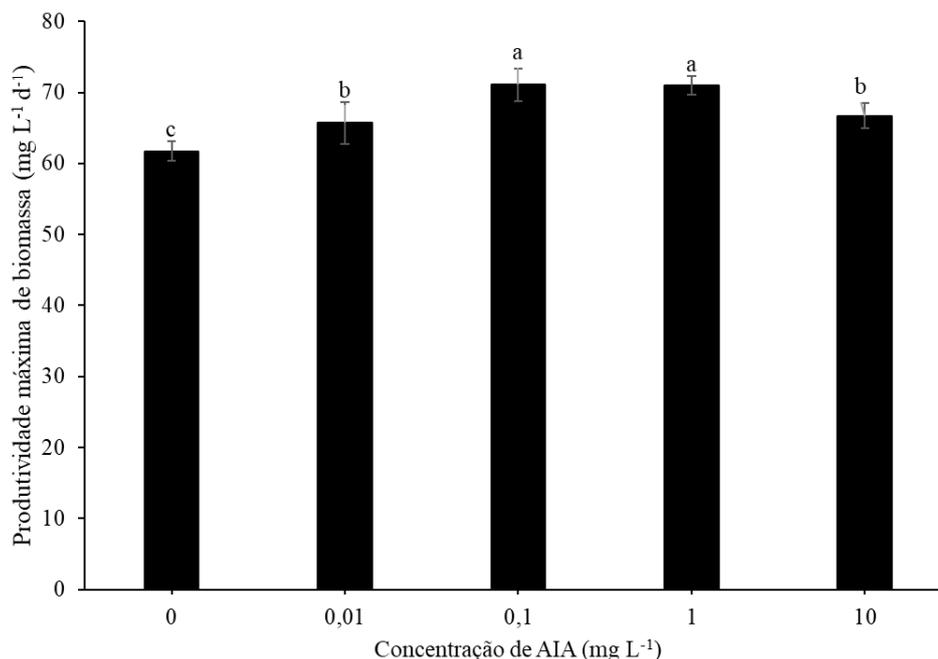
O preço do fitohormônio AIA e de todos os outros reagentes (grau analítico) que compuseram o meio de cultivo utilizado neste estudo foram obtidos a partir do site da Sigma-Aldrich em 12 de dezembro de 2019. O custo da produção de biomassa microalgal, assim como de proteínas, foram calculados utilizando a equação descrita por Park et al. (2013): $\text{Custo (US\$/g)} = ((A \cdot B) + C) / D$, onde A é a quantidade de AIA adicionado por litro de meio de cultura (mg L^{-1}), B é o preço de AIA ($\text{US\$ mg}^{-1}$), C é o preço do meio de cultivo ($\text{US\$ L}^{-1}$) e D é a concentração final de biomassa produzida (g L^{-1}).

Os resultados foram analisados em triplicata por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias, com intervalo de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados apresentados na Figura 1, pode-se observar que os ensaios com concentração de 0,1 e 1 mg L^{-1} de AIA obtiveram produtividade de biomassa estatisticamente superior às demais condições, atingindo aproximadamente 15% de acréscimo quando comparados ao cultivo sem adição de AIA. As demais condições de suplementação também apresentaram incremento no parâmetro avaliado.

Figura 1 - Produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$) de biomassa obtidas nos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 com suplementação de AIA.



Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a mesma resposta.

Ao analisar as produtividades de biomoléculas (Tabela 1), nota-se que a adição de AIA não estimulou aumento significativo no parâmetro comparado ao ensaio sem suplementação. Entretanto, as produtividades de todas as biomoléculas, foram mantidas semelhantes à condição controle. Assim, como esperado para *Spirulina*, a produtividade de proteínas se sobressai, uma vez que esta microalga é conhecida por apresenta alto teor proteico.

Tabela 1 - Produtividade de proteínas, lipídios e carboidratos obtidas nos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 com suplementação de AIA.

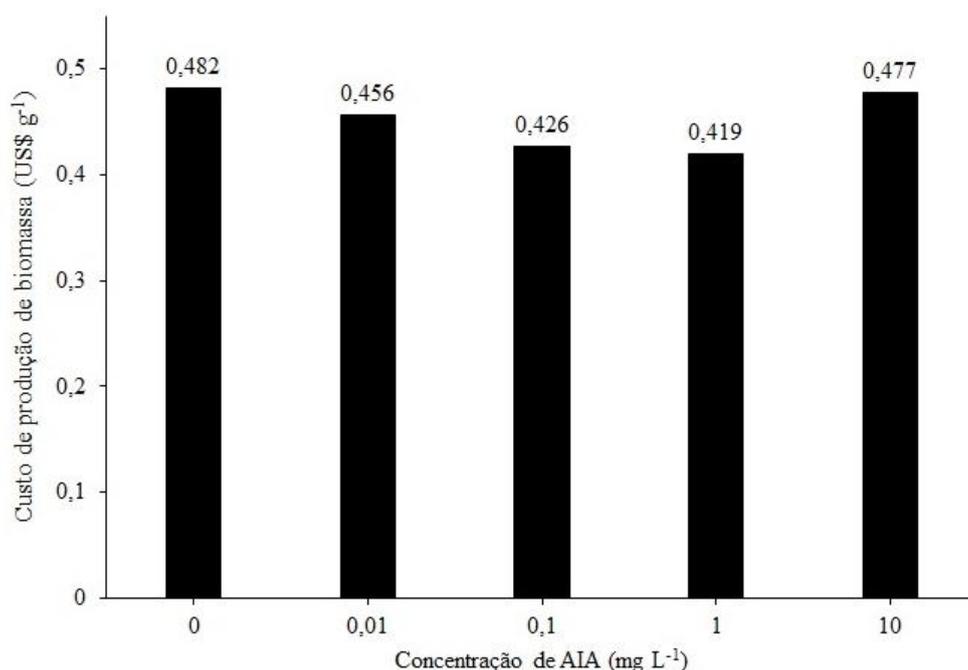


Experimento	Produtividade de proteínas (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Produtividade de lipídios (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Produtividade de carboidratos (mg L ⁻¹ d ⁻¹)
C	34,78±2,20 ^a	9,78±0,34 ^a	7,72±0,78 ^{a,b}
0,01	34,17±2,19 ^a	9,43±0,28 ^{a,b}	7,2±0,57 ^b
0,1	27,34±1,40 ^c	7,56±0,24 ^c	6,13±0,56 ^c
1	34,89±1,54 ^a	8,41±0,51 ^c	8,43±1 ^a
10	30,96±1,00 ^b	8,61±0,79 ^{b,c}	7,92±0,40 ^{a,b}

Letras minúsculas diferentes sobscritas na mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a mesma resposta.

A Figura 2 mostra que a proposta da suplementação de AIA no cultivo promoveu decréscimo no custo de produção de biomassa em todas as condições em que o fitohormônio foi adicionado. O custo médio encontrado entre todos os ensaios com o emprego do fitohormônio foi de US\$ 0,444 por grama de biomassa produzida. Por sua vez, a condição de produção com menor custo foi no experimento com adição de 1 mg L⁻¹ de AIA (US\$ 0,419/g), a qual comparada ao cultivo sem a suplementação (US\$ 0,482/g) mostrou-se 13% mais econômica.

Figura 2 - Análise de custos de produção de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com a suplementação de AIA.



Ao analisar a diferença de custos para obter um grama de biomassa a partir de um cultivo suplementado com AIA e um sem suplementação, tem-se US\$ 0,063 de diferença. Ao supor-se essas mesmas condições para um cultivo em maior escala, tem-se a diferença de US\$ 63,00 por quilograma de biomassa produzida e US\$ 63000,00 para uma tonelada. Esses valores são bastante significativos, uma vez que uma indústria brasileira que utiliza a biomassa de *Spirulina* para fins alimentícios produz em média 0,4 t (COSTA et al., 2019). Dessa forma, por ano economizaria cerca de US\$ 25000,00. Além disso, nesse cálculo não se levou em consideração diferenças de reatores, condições ambientais e de reagentes, os quais para cultivos em grande escala, geralmente são utilizados à granel e não grau analítico, como neste estudo.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, a suplementação de AIA ao cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 estimulou a produtividade de biomassa em todas as condições implementadas. Com a suplementação de 1 mg L⁻¹ a produtividade de biomassa foi incrementada em 15% (70,99 mg L⁻¹ d⁻¹), mantendo a produtividade de proteínas, carboidratos e lipídios, semelhante ao experimento sem suplementação (34,78, 8,41 e 8,43 mg L⁻¹ d⁻¹, respectivamente). Além disso, a partir da suplementação de AIA é possível diminuir em até 13% os custos de produção de biomassa. Assim, foi possível verificar que a ação de AIA no cultivo é eficaz para a maior produtividade de biomassa e redução de custos do processo e apresentando uma estratégia promissora na indústria alimentícia.

5 AGRADECIMENTOS



Os autores agradecem ao apoio financeiro CAPES, CNPQ e MCTI.

6 REFERÊNCIAS

- BELAY, A. The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. **Journal of the American Nutraceutical Association**, v. 5, p. 27-48, 2002.
- COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; ROSA, G. M.; MORAES, L.; MORAIS, G. M.; MITCHELL, B. G. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 292, n.7, p. 121-946, 2019.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- GRASSI, T. L. M.; SEDLACEK-BASSANI, J.; PONSANO, E. H. G. Estabilidade oxidativa de rações de tilápia contendo *Saccharomyces cerevisiae* e *Spirulina platensis*. **Ciência Rural**, v. 50, n. 1, 2020.
- HERNÁNDEZ-LEPE, M.A.; WALL-MEDRANO, A.; JUAREZ-OROPEZA, M. A.; RAMOS-JÍMENEZ, A.; HERNANDEZ-TORRES, R. P. *Spirulina* y su efecto hipolipemiante y antioxidante en humanos: Una revisión sistemática. **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, n. 2, p. 494-500, 2015.
- LOWRY, O. H.; ROSEBOUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.
- LUCAS, B. F.; MORAIS, M. G.; SANTOS, T. D.; COSTA, J.A.V. *Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. **LWT**, v. 90, p. 270-276, 2018.
- MACHADO, A. R., GRAÇA, C. S., ASSIS, L. M. D. SOUZA-SOARES, L. A. D. Uma abordagem sobre caracterização e avaliação do potencial antioxidante de extratos fenólicos de microalgas *Spirulina* sp. LEB- 18 e *Chlorella pyrenoidosa*. **Revista de Ciências Agrárias** v. 40, n. 1, p. 264-278, 2017.
- MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. **Journal of Lipid Research**, v. 7, p. 574-576, 1966.
- MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **A Journal of Biosciences**, v. 63, p.144-150, 2008.
- MORAIS, M. G.; VAZ, B. S.; MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V. Biologically active metabolites synthesized by microalgae. **BioMed Research International**, v. 2015. p. 1-15, 2015.
- OLIVEIRA, F.F.A.; DIAS, C. D. A.; ARAÚJO, S.G.D.; SILVA, M.E.; SILVA, F.M.I.; GOMES, F.M.L. A importância da alimentação saudável e estado nutricional adequado frente a pandemia de COVID-19. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 66464-66473, 2020.
- PARK, W.; YOO, G.; MOON, M.; KIM, C. W.; CHOI, Y. E.; YANG, J. W. Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 5, p. 1128-1142, 2013.
- RAJAK, U; VERMA, T. N. *Spirulina* microalgae biodiesel—A novel renewable alternative energy source for compression ignition engine. **Journal of cleaner production**, v. 201, p. 343-357, 2018.
- REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, p. 23-28, 2006.
- SILVEIRA, J. T **Cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 e *Chlorella fusca* LEB 111 suplementado com os fitohormônios ácido 3-indolacético e trans-zeatina**. 2019. Dissertação (mestrado): Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Rio Grande/RS.
- STOTZ, E. N. Limits of conventional agriculture and reasons for its persistence: a case study in Sumidouro, Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 114-126, 2012.
- ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée influence de divers facteurs physuques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima***. Ph.D Thesis, Université de Paris, 1966.